Über Glykoside

der Wurzeln von Bryonia dioeca

Auszug

der

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur

Erlangung der Doktorwürde

verfaßt und

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Julius - Maximilians - Universität zu Würzburg

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

vorgelegt von

Günter Wolf

aus

Minden

1955

Tag der mündl. Prüfung:

22. Sept. 1955

Vorliegende Arbeit wurde im Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität Würzburg ausgeführt und zusammengestellt.

Herrn Professor Dr.R.Dietzel sage ich für die Anregung zu dem bearbeiteten Thema und die mir angediehene Leitung meinen aufrichtigen Dank. Desgleichen danke ich Herrn Dr.P.Tunmann für zahlreiche Ratschläge.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Die in der Literatur (1-15) vorhandenen sich vielfach widersprechenden Angaben über Glykoside der Wurzeln von Bryonia dioeca gaben Anlaß zu einer erneuten Untersuchung der Droge.

Im Gegensatz zu anderen Autoren, die vorwiegend luftgetrocknete Droge verarbeiteten, wurden frische Wurzeln einem fermenthemmenden Prozeß unterworfen, da die von GIRARDET (16) nachgewiesenen Enzyme das Vorhandensein genuiner Glykoside in getrockneter Droge unwahrscheinlich machten. So wurde die zerkleinerte Wurzel mit Ammoniumsulfat und Schwefelwasserstoff stabilisiert und der Preßrückstand nach dem Trocknen zunächst im Perkolationsverfahren mit Petroläther entfettet. Die anschließende Extraktion mit 96%-igem Äthanol ergab 3,4% eines ockerfarbenen, sehr bitteren Trockenextraktes, der fein gepulvert in der SOXHLET-Apparatur von ätherlöslichen Stoffen befreit wurde. Der in absolutem Äthanol lösliche Anteil des Trockenextraktes wurde einer Bleifällung unterzogen, um die Gerbstoffe zu entfernen. Es verblieben 2,1% (bezogen auf das Gewicht des Preßrückstandes) eines goldgelben, nicht hygroskopischen, intensiv bitteren Trockenextraktes (Taf.1)

Versuche, aus verschiedenen Lösungsmitteln oder Gemischen derselben kristalline Stoffe zu erhalten, scheiterten.

Das Vorhandensein von Glykosiden im Trockenextrakt wurde dadurch bewiesen, daß erst nach saurer Hydrolyse im Papierchromatogramm Zuckerstoffe aufgefunden werden konnten, die, verglichen mit authenischem Material und aufgrund ihrer Osazone, als Glukose und Rhamnose erkannt wurden.

Die von mehreren Autoren beschriebenen "Bryonine" stellten lediglich mehr oder minder reine, alkoholische Extrakte dar, die ebensowenig Anspruch auf Einheitlichkeit hatten wie der vom Verfasser gewonnene Trockenextrakt. Durch papierchromatographische Analyse mit PARTRIDGE-Gemisch und n-Butanol/Wasser (1:1) konnte dieser in mindestens 7 auf CARR-PRICE-Reagens ansprechende Bestandteile zerlegt werden. (Abb.1).

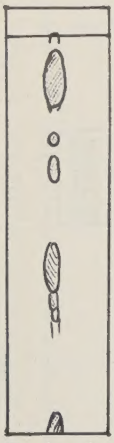
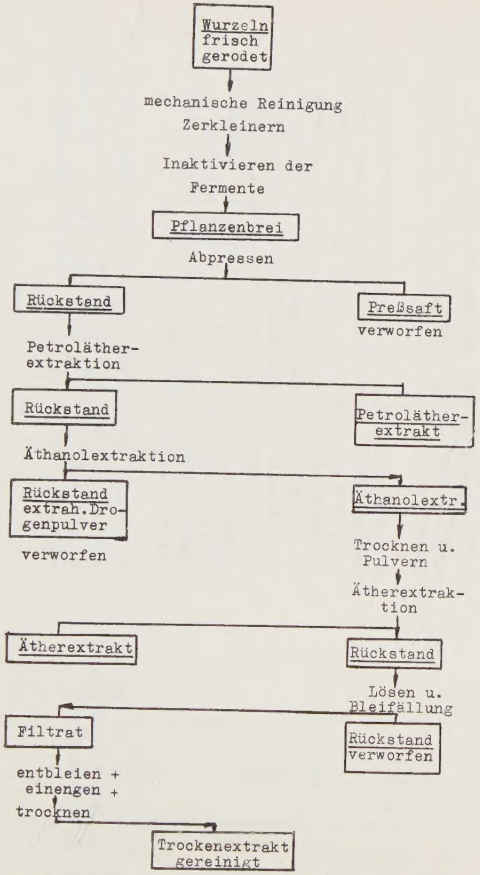


Abb.1 Papierchromatogramm des Extraktes mit PARTRIDGE-Gemisch.

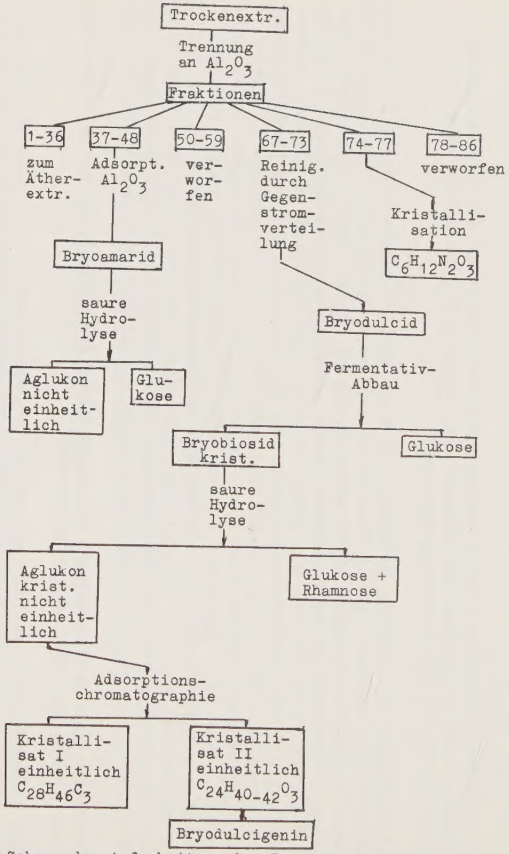
Die Trennung des im Trockenextrakt vorliegenden Substanzgemisches durch Chromatographie an Aluminiumoxyd (Abb.2) ergab in 3 Fraktionsgruppen Anreicherungen von Substanzen (Abb.3), die durch weitere Reinigung einheitlich und erstmals zum Teil kristallin erhalten werden konnten (Taf.2).

Der Rückstand der Fraktionsgruppe "37-48" war außerordentlich bitter. Um daraus den reinen Bitterstoff zu erhalten, wurde wiederholt an Aluminiumoxyd chromatographiert. Mit Chloroform entwickelten sich 3 im Tageslicht sichtbare Zonen, die selbst mit reinem Methanol nicht eluiert werden konnten. Nach Herausstoßen der Säule und Extraktion der einzelnen Zonen mit heißem 85%-igem Methanol fand sich schließlich der Bitterstoff papierchromatographisch einheitlich in der untersten gelbgefärbten Zone.

Die nicht kristallisierende Verbindung besaß nach Fällen aus Aceton/Äther ein Schmelzintervall von 157-163°C. Die spezifische Drehung betrug $[\alpha]_D^{18} = +23{,}74^\circ \pm 2^\circ$. Das UV-Spektrum zeig-



Tafel 1. Schema der Bereitung des Extraktes aus frischen Wurzeln von Bryonia dioeca.



Tafel 2. Schema der Aufarbeitung des Trockenextraktes, der Reindarstellung von Glykosiden und deren Abbau

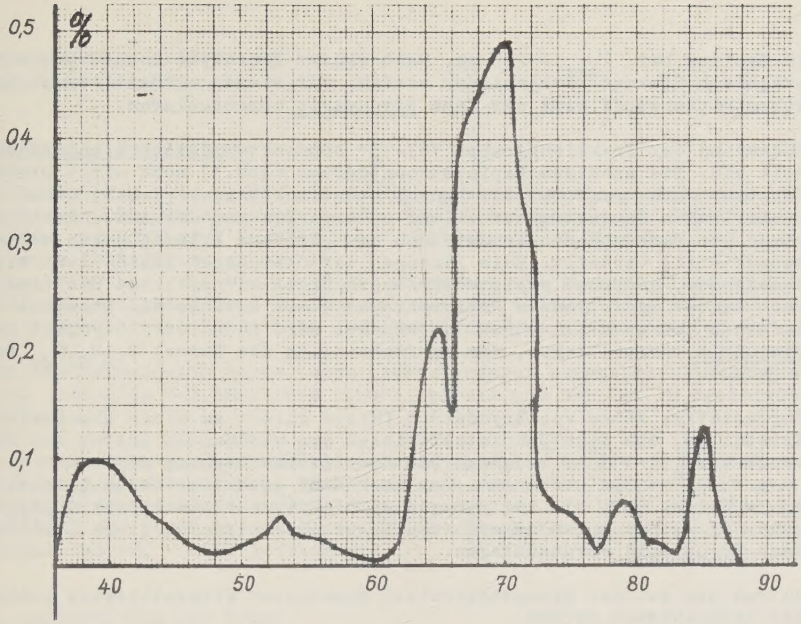


Abb.2 Konzentration der Substanzen in den fraktioniert aufgefangenen Eluaten der Adsorptionschromatographie an Aluminiumoxyd.

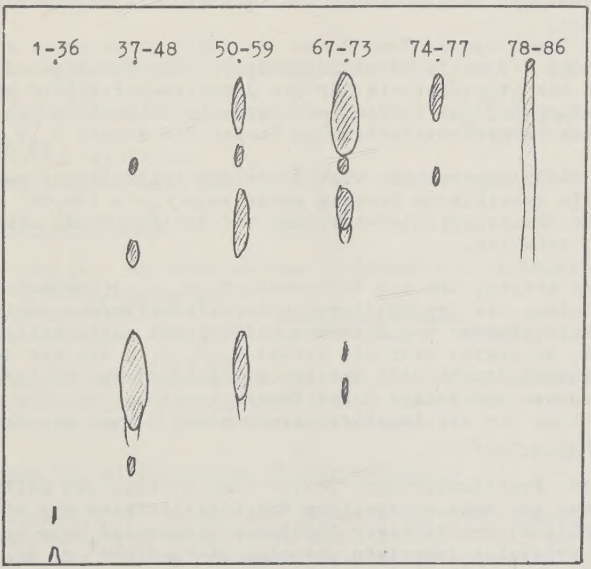


Abb.3 **Papierchromatogramm mit n-Butanol/Wasser (1:1) der durch Adsorption an Aluminiumoxyd erhaltenen Fraktionsgruppen.**

te ein Maximum bei λ_{max} = 253 mμ. Nach saurer Hydrolyse konnte papierchromatographisch Glukose nachgewiesen werden. Für diesen einheitlichen glykosidischen Bitterstoff wird der Name Bryoamarid vorgeschlagen.

Der Rückstand der Fraktionsgruppe "67-73" schmeckte schwach brennend und intensiv süß. Die nach dem Papierchromatogramm (Abb.3) noch nicht einheitliche Substanz wurde zunächst mit Benzol/n-Butanol/Wasser (8:2:5) einer diskontinuierlichen Gegenstromverteilung unterworfen und der süßschmeckende Rückstand der Wasserphasen erneut nach dem gleichen Prinzip gegen n-Butanol/Wasser (1:1) verteilt. Beim Einengen der Oberphasen schied sich eine süßschmeckende, amorphe, papierchromatographisch einheitliche Substanz aus, die nach saurer Hydrolyse im Papierchromatogramm Glukose und Rhamnose zeigte. Aufgrund seines stark süßen Geschmackes wird für dieses Glykosid der Name Bryodulcid vorgeschlagen, dem wahrscheinlich die Formel $C_{48}H_{82}O_{22}$ zukommt (s.u.).

Der fermentative Abbau von Bryodulcid führte direkt zu einer Abscheidung von Kristallen, die nach Umkristallisieren aus verdünntem Aceton ein Schmelzintervall von 172-175° C besaßen. Die spezifische Drehung wurde zu $[\alpha]_D^{18}$ = + 66,05° + 0,4° bestimmt. Das nach RAST erhaltene Molekulargewicht betrug im Mittel 687. Die Analyse gestattete demnach die Formel $C_{36}H_{62}O_{12}$. Aufgrund der weiter unten angeführten Ergebnisse wird für diese Verbindung der Name Bryobiosid vorgeschlagen.

Im Filtrat des bei der Fermenthydrolyse gewonnenen Kristallisates konnte Glukose nachgewiesen werden.

Die saure Hydrolyse des kristallinen Bryobiosids ergab nach üblicher Aufarbeitung zunächst nicht kristallines Produkt und in der Wasserphase Glukose und Rhamnose. Das Roh-Aglukon wurde aus Benzollösung an Aluminiumoxyd chromatographiert.

Aus den Fraktionen 4-9 zu je 50 ml resultierte eine Substanz, die nach Kristallisation aus Äther/Petroläther den Schmelzpunkt 155° C hatte. Die spezifische Drehung $[\alpha]_D^{17}$ = + 32,4° ±2° wurde in Chloroform bestimmt. Analyse und Molekulargewichtsbestimmung ließen die Formel $C_{28}H_{46}O_3$ zu.

Die Fraktionen 19-23 ergaben aus viel Äther ein Kristallisat vom Schmelzpunkt 186° C. Die spezifische Drehung wurde zu $[\alpha]_D^{19}$ = + 190,06° ± 2° gemessen. Durch Molekulargewichtsbestimmung und Analyse wurde die Formel von $C_{24}H_{40-42}O_3$ erhalten.

Diese Ergebnisse zeigen, daß die Verbindung $C_{24}H_{40-42}O_3$ vermutlich das Aglukon des Bryodulcids, das Bryodulcigenin, darstellt. Werden nämlich zu dieser Formel je 1 Mol. Glukose und Rhamnose addiert und gleichzeitig 2 Mol. Wasser subtrahiert, so ergibt sich die Formel $C_{36}H_{62}O_{12}$, die der des durch Fermentabbau erhaltenen Bryobiosids entspricht. Addiert man weiterhin zu dieser Formel 2 Mol. Glukose und bringt 2 Mol. Wasser in Abzug, so wird die Formel $C_{48}H_{82}O_{22}$ erhalten, die der empirisch ermittelten Formel des Bryodulcids nahekommt ($C_{49}H_{82-84}O_{20}$).

Beim Einengen der Fraktionsgruppe "74-77" (Taf.2) fiel ein gelbgefärbter Kristallbrei aus, der nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Äthanol wenige Milligramme farbloser rechteckiger Blättchen hinterließ. Die bei 230° C. sublimierenden Kristalle schmolzen zwischen 255 und 258° C. Sie enthielten Stickstoff, gaben keine Alkaloidreaktion und reagierten im Papierchromatogramm gegen Ninhydrin positiv. Die Analyse ergab als kleinste mögliche Formel $C_6H_{12}N_2O_3$.

Beschreibung der Versuche

Allgemeine Bemerkungen

Alle Schmelzpunkte wurden mit der Mikroschmelzpunktapparatur nach KOFLER bestimmt. Die Fehlergrenze lag bis 200° C bei etwa + 2°. Substanzproben wurden zur Drehung 5 Stunden bei 2 Torr und 78° C über P_2O_5 und zur Analyse im Hochvakuum getrocknet.
Unter "üblicher Aufarbeitung" ist Verdünnen mit Wasser, Einengen im Vakuum, Ausschütteln mit Äther, Waschen mit Wasser, 1-%iger Sodalösung und Wasser, Trocknen über Kaliumkarbonat oder Natriumsulfat und Eindampfen zu verstehen.

Zur Chromatographie wurde, wenn nichts anderes angegeben, Aluminiumoxyd ohne Anwendung von Säure von Alkali befreit und bei 200° C reaktiviert (17).

Lösungsmittelgemische zur Papierchromatographie wurden 24 Stunden vor Benutzung gesättigt. Wenn nichts anderes angegeben, wurden die Bogen (Schleicher & Schüll 2o43b Mgl.) 24 Stunden vor dem Entwickeln dampfgesättigt. Vor und nach dem Besprühen mit Reagenzien wurden die Chromatogramme bei 100 - 105° getrocknet.

A. Aufbereitung der Droge

27,0 kg frischer Wurzeln von Bryonia dioeca, gewaschen, abgetrocknet und fein zerschnitten, wurden mit
20,0 kg Ammoniumsulfat versetzt und zu einem Brei verarbeitet.

Peroxydase wurde durch Einleiten von Schwefelwasserstoff zerstört. (Probe mit Leukobase des 2,6-Dichlorphenol-Indophenols und 1,5 %iger Hydroperoxydlösung negativ).
Überschüssiger Schwefelwasserstoff wurde mit Kohlendioxyd vertrieben.

Nach Abpressen verblieben
7,5 kg ammoniumsulfathaltiger Rückstand. Dieser wurde bei 35° getrocknet.

B. Extraktion der Droge

Portionen von je 1 kg Droge wurden in Röhren von 1m Länge und 65 mm lichter Weite durch Perkolation mit je
8 l Petroläther entfettet und mit etwa
7 l 96 %igem Alkohol (bis zur Entbitterung) extrahiert.

Die vereinigten Alkoholextrakte ergeben, zur Trockne eingedampft (Vakuum) und zu einem amorphen, goldgelben Schaum aufgezogen, etwa
250,0 g entsprechend 3,4 % des Preßrückstandes.

C. Reinigung des alkoholischen Trockenextraktes

32,0 g Trockenextrakt wurden mit 100 ml absolutem Äthanol digeriert und durch Dekantieren vom unlöslichen Rückstand getrennt, der noch zweimal mit je 25 ml abs. Alkohol nachgewaschen wurde. Die alkoholische Lösung war sulfatfrei.
Es verblieben 27,6 g gleich 2,76 %.

Zur Bleifällung wurde in der 10fachen Menge Methanol gelöst, mit der doppelten Menge Wasser verdünnt und mit etwa 30 g frisch gefälltem, alkalifreiem Bleihydroxyd 2 - 3 Stunden bei Zimmertemperatur gerührt.

Das Filtrat wurde mit Schwefelwasserstoff vom Blei und mit Kohlendioxyd vom Schwefelwasserstoff befreit.

Das gereinigte Trockenextrakt betrug 21,0 g entsprechend 2,1 % der Droge.

D. Nachweis von Glykosiden

Im Papierchromatogramm wurde nach Entwickeln mit PARTIRDGE-Gemisch und Besprühen mit Anilinphthalat von folgenden Substanzen Flecke erhalten:

a) 0,2 mg Extrakt	-----
b) ca.0,2 mg Hydrolysat	$R_{f1} = 0,17$; $R_{f2} = 0,35$
c) 0,1 mg Glukose	$R_f = 0,17$
d) 0,1 mg Rhamnose	$R_f = 0,35$
e) je 0,1 mg c) + d)	$R_{f1} = 0,17$; $R_{f2} = 0,35$.

Das Hydrolysat b) wurde durch 24-stündiges Erhitzen im Wasserbad von 2,0 g Trockenextrakt in einer Mischung von je 50 ml Methanol und 2n-Schwefelsäure erhalten.

E. Auftrennung des Extraktes durch Adsorptionschromatographie an Aluminiumoxyd

50,0 g Trockenextrakt wurden an 1500 g Aluminiumoxyd mit Benzol, Benzol/Methanol, Methanol, Wasser und saurem Wasser chromatographiert. Siehe Tabelle 1.

F. Reindarstellung des Bitterstoffes.

5,0 g des Abdampfrückstandes der Fraktionsgruppe "37-48" wurden in 5 ml Äthanol gelöst und mit 200 ml Chloroform versetzt. Diese Lösung wurde an einer Säule von 150 g Aluminiumoxyd (stand. nach BROCKMANN) adsorbiert und mit Chloroform entwickelt.

Die entstandenen 3 Zonen wurden nach Herausstoßen der Säule einzeln mit 85 %igem heißen Methanol extrahiert. Zone 3 (unterste Zone) enthielt die Hauptmenge des Bitterstoffes, von dem 2,83 g mit einem Schmelzintervall von 156 - 160° C gewonnen werden konnten.

Die gleiche Chromatographie wurde an 90,0 und dann an 30,0 g Aluminiumoxyd wiederholt. Es resultierten 512 mg papierchromatographisch einheitlicher Bitterstoff mit einem Schmelzintervall von 157 - 163 ° C. (Papierchromatographie mit Butanol-Wasser (1:1) ; durch CARR-PRICE-Reagens gelber Fleck ; $R_f = 0,62$).

Zur Drehung wurden 20,56 mg in Methanol zu 2,00 ml gelöst und im 1 dm-Mikrorohr gemessen $\alpha^{18}_D = + 0,244^\circ \pm 0,02^\circ$

$$\text{Spezifische Drehung } [\alpha]^{18}_D = + 23,74^\circ \pm 2^\circ.$$

Saure Hydrolyse und Papierchromatographie zum Nachweis des Zuckers wie unter D. Gefunden: Glukose.

Fraktion	Eluier-mittel	Menge ml	Eigenschaft	Schmp. °C	Isolierte Menge mg
1	Benzol	510	-	-	-
2	"	260	-	-	-
3	"	1060	-	-	-
4	"	1000	schmierig	-	21,3
5	"	1010	"	-	7,2
6	"	980	-	-	-
7	"	1025	-	-	-
8	"	1030	-	-	-
9	"	1000	-	-	-
10	Benzol+	500	-	-	-
11	1%-Meth.	580	gelb,ölig	-	45,3
12	"	510	"	-	31,8
13	"	1000	"	-	34,0
14	"	1010	"	-	21,0
15	"	1025	"	-	16,7
16	"	1000	"	-	7,0
17	"	1000	-	-	-
18	"	1020	gelber	-	22,5
19	"	1000	Lack	-	38,0
20	"	1000	"	-	45,3
21	"	1100	"	-	39,1
22	"	1000	"	-	27,0
23	"	1020	"	-	20,0
24	"	1000	"	-	18,5
25	"	1010	"	-	14,2
26	"	1250	"	-	9,2
27	Benzol+	1000	"	-	21,5
28	2%-Meth.	1000	gelbroter	-	60,2
29	"	1000	Lack,11.in	-	75,4
30	"	1000	Äac.Ä.B.A.	-	58,0
31	"	970	Ac.,ul.in	-	50,0
32	"	1000	Petroläth.	-	33,8
33	"	1000	"	-	31,4
34	"	900	"	-	12,0
35	"	1000	"	-	15,0
36	Benzol+	1000	gelber	-	68,0
37	5%-Meth.	1010	Lack,11.in	132-135	701,4
38	"	1000	Alk.Acet.	134-138	940,2
39	"	1000	ul.in Benz.	134-140	959,0
40	"	980	Äth.Peträth.	140-148	940,1
41	"	1000	"	136-140	810,0
42	"	1500	"	"	930,5
43	"	1010	"	132-140	481,2
44	"	1000	"	132-140	426,0
45	"	1000	"	"	333,4
46	Benzol+	900	gelber Lack	132-140	223,2
47	5%-Meth.	1000	11.in Alk.Acet.	132-140	123,2
48	"	1000	ul.in Benz.	132-135	99,5
49	"	500	Äth.Peträth.	-	41,5
50	Benzol+	600	ul. in Acet.	-	180,0
51	10%-Meth.	1000	"	-	261,5
52	"	1010	gelber Lack	145-148	301
53	"	1000	11.in M.A.W.	145-151	465
54	"	1000	ul.in Ee.Ac.	145-155	320
55	"	980	Chl.Benz.Ä.	146-152	484
56	"	1000	Petroläth.	144-152	260
57	"	900	"	144-151	182
58	"	1000	"	140-150	100
59	"	990	"	-	62
60	"	1500	"	-	77
61	"	2000		-	105
62	Benzol+	1100	wie oben,u.	-	220
63	20%-Meth.	1000	vollst.ul.	-	1100
64	"	1010	in Acet.	132-136	1820
65	"	1000	"	150-155	2207
66	"	1100	"	"	1400
67	Benzol+	1000	gelblich	164-170	4150
68	30%-Meth.	1000	weiß	168-174	4440
69	"	1000	"	170-174	4750
70	"	1020	"	174-179	4912
71	"	1000	"	179-185	3820
72	"	1000	"	174-185	3134
73	"	970	"	173-180	650
74	Benzol	1500	gelblich	164-170	510
75	Benzol+	1000	gelblichbraun.	ab 150	484
76	50%-Meth.	1000	Lack,enthält	-	350
77	"	1010	Kristallisat		110
78	Methanol	1000	gelber Lack	-	405
79	"	1000	hygrokop.	128-134	620
80	"	1000	"	146-154	450
81	"	1000	"	138-145	211
82	"	1500	"	-	196
83	"	1000	gelber Lack	-	92
84	Wasser	1000	gelbbraun,l.	-	700
85	"	1000	in M.sl.inA.	-	1320
86	"	600	enth.anorg.St.	-	344
87	Wasser + 0,5%-H_2SO_4	3000	gelb,kleiner Teil mit Butanol ausschüttelbar	-	281
					49 125

Trennung des Trockenextraktes durch Adsorptionschromatographie an Aluminiumoxyd

G. Darstellung des Glykosides "Bryodulcid" durch Gegenstromverteilung

1a)
Apparatur nach E. HECKER, Größe 2.
Stoffeinsatz 1 g (Rückstand der Fraktionsgruppe "67-73")gelöst
in der Unterphase des Aggregates 0.
Gemisch: Benzol-Butanol-Wasser (8:2:5).
Durchgeführt wurde ein 25-stufiger Grundprozeß.

Nach Verteilung waren die Rückstände der Oberphasen 0-7 und die der Unterphasen 11-0 gegen CARR-PRICE-Reagens positiv.

1b)
Der Rückstand der Unterphasen 11-0 enthielt unreines Glykosid. 860 mg dieses Rückstandes wurden wiederum in der Unterphase des Elementes 0 gelöst.
Als Gemisch diente Butanol-Wasser (1:1).
Nach Abschluss des Grundprozesses enthielten die Oberphasen 5-17 die CARR-PRICE-empfindliche Substanz, die im Papierchromatogramm einheitlich erschien. Ausbeute aus den drei Hauptfraktionen 10,11 und 12 betrug 85 mg Bryodulcid.

Schmelzpunkt 198 - 203°C.

Saure Hydrolyse und Papierchromatographie zum Nachweis der Zucker wie unter D. Gefunden: Glukose und Rhamnose.

2a)
Zur Darstellung einer größeren Menge Bryodulcids wurden 22,0 rohes Bryodulcid (Rückstand der Fraktionsgruppe "67-73") in Schütteltrichtern den beiden Verteilungen 1a und 1b unterworfen.
Es resultierten 7,9 g reines Bryodulcid.
Schmp. 198-205°C.
Zur Drehung wurden 394,01 mg. Bryodulcid in Wasser zu 5,00 ml gelöst und im 1 dm-Mikrorohr gemessen. $\alpha_D^{20} = + 2,86^\circ \pm 0,01^\circ$.

Spezifische Drehung $[\alpha]_D^{20} = + 36,24^\circ \pm 0,1^\circ$.

Analyse. 4,179 mg Substanz gaben 9,08 mg CO_2 und 3,15 mg H_2O.

$C_{49}H_{84}O_{20}$ (990) Ber. C 59,27 % H 8,46 %
Gef. C 59,29 % H 8,43 %

H. Fermentativer Abbau des Bryodulcids

3,03 g Glykosid wurden in 400 ml Wasser gelöst. 100 mg Fermentpulver (Luitpoldwerk) wurden in 100 ml Wasser angeschlämmt und das Filtrat mit der Glykosidlösung vereinigt. Nach Zugabe von 10 ml Toluol erfolgte der Abbau bei 37° in 5 Tagen. Die wasserunlöslichen Bestandteile wurden kristallin erhalten.
Erstes Kristallisat 1,743 g.

Nach einigen Tagen hatten sich noch 83,2 mg ausgeschieden. Ferner wurden nach dem Konzentrieren des Filtrates im Vakuum noch 121,6 mg amorphes Material gewonnen.

Ausbeute an Bryobiosid 1,945 g.

I. Das Bryobiosid

Zur Drehung wurden 228,98 mg in Äthanol zu 5,00 ml gelöst und im 1 dm-Mikrorohr gemessen. $\alpha_D^{19} = + 3,03^\circ \pm 0,02^\circ$.

Spezifische Drehung $[\alpha]_D^{19} = + 66,05^\circ \pm 0,4^\circ$.

Molekulargewichtsbestimmung nach RAST in Campher:

a.) Einwage Kristallisat 7,70 mg
Einwage Campher 106,8 mg

Depression:	Molekulargewicht:
4,1°	704
4,0°	720
4,3°	672

b.) Einwage Kristallisat 10,31 mg
Einwage Campher 101,2 mg

Depression	Molekulargewicht:
6,0°	679
6,2°	657
5,9°	690

Mittleres Molekulargewicht 687.

Analyse. 1,174 mg Substanz gaben 2,71 mg CO_2 und 0,97 mg H_2O.

$C_{36}H_{62}O_{12}$ (686) Ber. C 62,97 % H 9,33 %
Gef. C 62,99 % H 9,25 %

K. Hydrolyse des Bryobiosids

1,74 g reinstes Kristallisat wurden in 50 ml Methanol gelöst und mit 50 ml 2n-Schwefelsäure 36 Stunden im Stickstoffstrom zum Sieden erhitzt. Nach üblicher Aufarbeitung blieben 877,0 mg in Äther lösliche Bestandteile. Sie wurden in Benzol gelöst und an 27 g Aluminiumoxyd (stand. nach BROCKMANN) chromatographiert. (S. Tab. 2)

Die Fraktionen Nr. 4-9 lieferten 101,6 mg Kristallisat aus Äther-Petroläther vom Schmp. 154° C. Nach dreimaligem Umkristallisieren blieben 63,8 mg vom Schmp. 155° C. Kristallisat I.

Die Fraktionen Nr. 19-23 gaben ein Kristallisat aus viel Äther, dessen Schmp. nach dreimaligem Umkristallisieren 186° C betrug. Kristallisat II = Bryodulcigenin.

Kristallisat I :
Zur Drehung wurden 21,96 mg in Chloroform zu 2,00 ml gelöst und im 1 dm-Mikrorohr gemessen. $\alpha_D^{17} = + 0,36^\circ \pm 0,02^\circ$

Spezifische Drehung $[\alpha]_D^{17} = + 32,4^\circ \pm 2^\circ$.

Molekulargewichtsbestimmung nach RAST in Campher:

a.) Einwage Kristallisat I 12,16 mg
Einwage Campher 123,98 mg

Depression	Molekulargew.:
9,1°	431
9,3°	422
9,4°	417

b.) Einwage Kristallisat I 7,53 mg
Einwage Campher 110,2 mg
Depression 4,9° Molekulargew.: 409
4,7° 427
4,75° 422

Mittleres Molekulargewicht 421.

Analyse. 3,798 mg Substanz gaben 10,86 mg CO_2 und 3,61 mg H_2O.

$C_{28}H_{46}O_3$ (430) Ber. C 78,07 % H 10,78 %
Gef. C 78,22 % H 10,66 %

Tabelle 2

Fraktion	Eluier-mittel	Menge ml	Eindampfrückstand Menge in ml	Habitus	Schmp. °C
1	Benzol	50	17,1	Oel	-
2	"	50	6,2	"	-
3	"	50	2,0	"	-
4	"	50	6,8	Lack	-
5	"	50	36,0	krist.	148 -152
6	"	50	49,5	"	"
7	"	50	9,1	"	"
8	"	50	23,8	"	155-162
9	"	50	5,3	-	-
10	"	50	3,1		-
11	"	50	201,6	krist.	149-155
12	"	50	50,0	"	158-175
13	"	50	32,2	"	"
14	"	50	5,5	"	"
15	"	50	1,2	-	-
16	"	50	1,3	-	-
17	"	50	0,8	-	-
18	Chlorof.	50	-	-	-
19	"	50	72,0	krist.	180
20	"	50	125,6	"	182-184
21	"	50	53,0	"	"
22	"	50	36,2	"	"
23	"	50	14,1	-	-
24	"	50	8,0	-	-
25	"	50	2,7	-	-
26	Methanol	50	28,2	Lack	-
27	"	50	70,0	"	-
28	"	50	10,6	-	-

Kristallisat II, Bryodulcigenin:

Zur Drehung wurden 20,65 mg in Chloroform zu 2,00 ml gelöst und im 1 dm-Mikrorohr gemessen. $\alpha_D^{19} = + 1,97^\circ \pm 0,02^\circ$.

Spezifische Drehung $[\alpha]_D^{19} = + 190,06^\circ \pm 2^\circ$.

Molekulargewichtsbestimmung nach RAST in Campher:

a.) Einwage Bryodulcigenin 11,24 mg
Einwage Campher 118,8 mg
Depression 9,9° Molekulargew.: 382
9,7° 390
9,7° 390

b.) Einwage Bryodulcigenin 7,03 mg
Einwage Campher 111,4 mg
Depression 6,6° Molekulargew.: 383
6,4° 394
6,5° 388

Mittleres Molekulargewicht 388.

Analyse. 3,693 mg Substanz gaben 10,34 mg CO_2 und 3,58 mg H_2O.

$C_{24}H_{40}O_3$ (376) Ber. C 76,53 % H 10,63 %
Gef. C 76,41 % H 10,85 %

L. Die Stickstoffverbindung

Fraktionsgruppe "74-77" (Taf.2) ergab nach Eindampfen ein Kristallisat. Nach sechsmaligem Umkristallisieren aus heißem Alkohol blieben 32,3 mg reines, farbloses Kristallisat, das bei 230° C sublimierte und zwischen 255 und 258° C schmolz.

Analyse. 4,571 mg Substanz hatten 0,0008 mg Rückstand und gaben 7,585 mg CO_2 und 3,03 mg H_2O.

2,950 mg Substanz gaben
0,476 ml N bei 25° und 738 mm Hg.

$C_6H_{12}N_2O_3$ (160) Ber. C 44,99 % H 7,55 % N 17,49 %
Gef. C 45,35 % H 7,43 % N 17,93 % .

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s .

1. MANKOWSKI Hist. Stud. a.d. Pharmakolog. Inst. der Univers. Dorpat 1889 II S. 143
2. PLANGE Schmidt's Jbch. d. Med. 60, 158 (1848)
3. HAHNEMANN Chronische Krankheiten I.S. 220
4. TRAUTMANN Dissertation Leipzig 1825
5. ORFILA Lehrbuch d.Tox. 1854, S. 86
6. KARSTEN-WEBER Lehrbuch d. Pharmakognosie. 1948; Verl. Gustav Fischer Jena; 7.Aufl. S. 383
7. VAUQUELIN Annales de chimie 7 , 91, (1806)
8. MERCK E. Jber. 35,44, (1935)
9. WALZ Neues Jbch. d. Pharm. 9, 65, (1858),16, 8, (1861)
10. MASSON Journ. de pharm. et de chimie 27, 300, (1893)
11. SILBER Dissertation Erlangen 1894
12. POWER F.B. u. MOORE CH.W. Journ.chem.Soc. (Lond.) 99, 937, (1911)
13. ZELLNER I. u. TASCHNER E. Arch. d. Pharm. Ber. d. Dtsch. Pharm. Ges. 265, 34, 1927
14. KREITMAIR H. u.KÜSSNER W. Merck's Jber. 52, 56, (1938)
15. ANGELETTI A. u.PONTE D. Gazz. chim. ital. 64, 569, (1934)
16. GIRARDET N.F. Journ. de pharm. et de chim. 7, 30, (1924)
17. v.EUW.I.LARDON A. u. REICHSTEIN T. Helv. chim. act. 27, 1287 (1944).

RUDOLF BAEHR DRUCK- UND WERBETECHNIK
WURZBURG EGLOFFSTEINSTR. 3